

NexGard® COMBO

FEROZ FRENTE A LOS PARÁSITOS

- ☒ Eficacia alta y sostenida frente a pulgas y garrapatas
- ☒ Alta eficacia frente a la sarna otodéctica
- ☒ Cubre vermes pulmonares, vesicales y gastrointestinales incluyendo cestodos
- ☒ Previene la dirofilariosis felina



NexGard® COMBO solución spot-on para gatos. Composición: 0,8 - < 2,5 kg (0,3 ml): 3,6 mg esafloxolaner, 1,2 mg eprinomectina y 24,9 mg prazicuantel. 2,5 - < 7,5 kg (0,9 ml): 10,8 mg esafloxolaner, 3,6 mg eprinomectina y 74,7 mg prazicuantel. Especies de destino: Gatos. Indicaciones: Para gatos con, o en riesgo de, infecciones mixtas por cestodos, nematodos y ectoparásitos. Uso exclusivo para tratar estos tres grupos a la vez. Ectoparásitos: Tratamiento de las infestaciones por pulgas (*Ctenocephalides felis*). Un tratamiento mata pulgas de forma inmediata y persistente durante un mes. Tratamiento para el control de la dermatitis alérgica por pulgas (DAPP). Tratamiento de las infestaciones por garrapatas. Un tratamiento mata garrapatas de forma inmediata y persistente contra *Ixodes scapularis* durante un mes y contra *Ixodes ricinus* durante cinco semanas. Tratamiento de las infestaciones por ácaros de los oídos (*Otodectes cynotis*). Cestodos gastrointestinales: Tratamiento de las infecciones por tenias (*Dipylidium caninum*, *Taenia taeniaeformis*, *Echinococcus multilocularis*, *Joyeuxiella pasqualei* y *Joyeuxiella fuhrmanni*). Nematodos: Tratamiento de las infecciones por nematodos gastrointestinales (larvas L3, L4 y adultos de *Toxocara cati*; larvas L4 y adultos de *Ancylostoma tubaeforme* y de *Ancylostoma ceylanicum*, y formas adultas de *Toxascaris leonina* y *Ancylostoma braziliense*). Prevención de la dirofilariosis (*Dirofilaria immitis*) durante un mes. Tratamiento de las infecciones por vermes pulmonares felinos (larvas L4 y adultos de *Troglostrongylus brevior*). Tratamiento de infecciones por gusanos vesicales (*Capillaria plica*). Contraindicaciones: No usar en casos de hipersensibilidad a las sustancias activas o a algún excipiente. Gestación y lactancia: No ha quedado demostrada la seguridad del medicamento veterinario durante la gestación ni la lactancia. Reacciones adversas: Hipersalivación, diarrea, reacciones cutáneas transitorias en el lugar de aplicación (alopecia, prurito), anorexia, letargia y vómitos se han observado infrecuentemente. Se trata en su mayoría de reacciones leves, de corta duración y de resolución espontánea. Posología: Uñción dorsal puntual. Se recomienda una dosis mínima de 144 mg esafloxolaner, 0,48 mg eprinomectina y 10 mg prazicuantel por kg de peso. Precauciones: Únicamente para aplicación spot-on. No inyectar, no administrar por vía oral ni por cualquier otra vía. Evitar el contacto con los ojos del gato. Si ocurre un contacto ocular accidental, enjuagar los ojos inmediatamente con agua limpia. Es importante aplicar el medicamento veterinario en una zona de la piel donde el gato no lo pueda lamer. El medicamento veterinario no debe utilizarse en gatos que pesen menos de 0,8 kg y/o con menos de 8 semanas de edad. Tiempos de espera: No procede. Conservación: Conservar el aplicador sin usar en el envase original con objeto de protegerlo de la luz. Los aplicadores usados se deben desechar de inmediato. N° autorización: EU/2/20/267/002 y EU/2/20/267/006. Presentación: Caja de cartón con 1 aplicador de 0,3 ml con 3 blísteres y caja de cartón de 1 aplicador de 0,9 ml con 3 blísteres. Titular: Boehringer Ingelheim Vetmedica GmbH. Medicamento sujeto a prescripción veterinaria.



Boehringer
Ingelheim

¡NUEVO!



Aplicador cómodo
y preciso

El antiparasitario de más amplio espectro*
desarrollado específicamente para gatos.

*Junto con Broadline y según el Resumen de las Características de los Productos de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS), 2021

Estudio de la eficacia comparativa de antiparasitarios gastrointestinales en la tortuga mediterránea (*Testudo hermanni*) en un ambiente naturalizado

Study of comparative efficacy of gastrointestinal antiparasitics in the Mediterranean tortoise (*Testudo hermanni*) in a naturalized environment

J. Aguiló-Gisbert,^{1,2} E. Giraldo-Gil,² R. Gómez-Saldaña,¹ V.M. Lizana-Martin,^{1,4}
E. Chillida-Martínez,¹ J.M. Gil-Puerto,³ J. Cardells-Peris^{1,4}

¹Servicio de Análisis, Investigación, Gestión de Animales Silvestres (SAIGAS). ²Departamento de Medicina y Cirugía animal. Facultad de Veterinaria. Universidad Cardenal Herrera-CEU. c/ Tirant lo Blanc 7. 46115 Alfara del Patriarca (Valencia).

³Centro de Recuperación de Fauna del Saler. Conselleria de Agricultura, Desarrollo Rural, Emergencia Climática y Transición Ecológica, Generalitat Valenciana. Avinguda dels Pinars 106. El Saler (CV-500, km 10,5). 46012 Valencia.

⁴Wildlife Ecology & Health group (WE&H). Universitat Autònoma de Barcelona (UAB). Facultad de Veterinaria. Edifici V, V0-323. 08193 Bellaterra (Barcelona).

Resumen

La tortuga mediterránea (*Testudo hermanni*) es un quelonio europeo que se halla severamente amenazado en la actualidad. Los problemas asociados a parásitos intestinales no son inusuales en estos reptiles. Por ello, ante la necesidad de bibliografía referente a su terapéutica, se decidió evaluar en esta especie la eficacia de antiparasitarios gastrointestinales, como el fenbendazol y el levamisol, en un ambiente naturalizado. Setenta ejemplares fueron distribuidos en cinco grupos distintos aleatorios y homogéneos en cuanto a sexo y edad de los individuos. De los cinco grupos dos fueron tratados con fenbendazol vía oral a dosis bajas (25 mg/kg) y altas (100 mg/kg), respectivamente, y otros dos grupos fueron medicados con levamisol vía intramuscular a dosis bajas (5 mg/kg) y altas (10 mg/kg). Un grupo control permaneció sin recibir ningún tratamiento durante todo el estudio. Ambos antiparasitarios resultaron efectivos una vez acabado el estudio, reduciendo la carga inicial de nematodos en todos los grupos, a pesar de que ninguno fue capaz de eliminar por completo los parásitos de las tortugas. El antiparasitario más eficaz en este trabajo fue el fenbendazol a 100 mg/kg, mientras que el levamisol fue menos eficaz a ambas dosis que el fenbendazol. La influencia del ambiente se vio reflejada en el grupo control, que disminuyó la carga parasitaria sin haber sido tratado.



Palabras clave: *Testudo hermanni*, fenbendazol, levamisol.
Keywords: *Testudo hermanni*, fenbendazol, levamisol.

Clin Vet Peq Anim 2021, 41 (4): 221-229

Introducción

En la tortuga mediterránea, como en la mayoría de las tortugas terrestres, los parásitos gastrointestinales más frecuentes son los nematodos, principalmente oxiúridos,¹⁻¹² pero también se suelen hallar protozoos, sobre todo ciliados y flagelados.^{1,2,4-6,10,12}

Para el diagnóstico se recomienda la realización de aproximadamente tres análisis coprológicos seriados en un intervalo de dos semanas, ya que un solo resultado negativo no descarta la infestación parasitaria.⁴ Para el diagnóstico de nematodos y protozoos existen diversas metodologías de análisis coprológico entre las que se encuentran:^{2,4,6,13}

- Examen macroscópico: Observación directa de ne-

matodos adultos en las heces; es poco sensible pero muy específico.

- Extensión en fresco: Permite identificar huevos y larvas de nematodos y también protozoos (muestras frescas).
- Métodos de flotación: Soluciones saturadas de cloruro sódico, glucosa, sulfato de zinc al 33 %, etc. Concentran las formas parasitarias y se pueden cuantificar.
- Métodos bifásicos: Sedimentación y posterior flotación. Es más laborioso y permite recuperar un porcentaje mayor de formas parasitarias.

Si bien estos sistemas proporcionan normalmente

Contacto: jordi.aguiló@uchceu.es

resultados cualitativos (positivo/negativo), tanto con el método de flotación como en los bifásicos se puede utilizar la cámara de McMaster para cuantificar la carga parasitaria.

Los nematodos gastrointestinales asociados a estas tortugas presentan un ciclo biológico directo similar, en el que los huevos se eliminan en las heces y el hospedador se infecta ingiriéndolos, o ingiriendo las larvas de tercer estadio (L3) que se han desarrollado fuera del hospedador.^{2,3,8,9,14-17} Tanto oxiúridos como ascáridos infectan a través de huevos embrionados o larvados, respectivamente, que eclosionan en el intestino delgado del hospedador. En el caso de los ascáridos, presentan una migración intraorgánica y los adultos se localizan en el intestino delgado; en el caso de los oxiúridos las larvas se desarrollan completamente en el intestino grueso.^{2,15,17}

Muchos oxiúridos se consideran comensales de estas tortugas, previniendo la constipación y regulando la flora intestinal.⁸⁻¹⁰ No obstante, pueden acarrear problemas cuando suponen una elevada carga parasitaria, como anorexia, diarreas e incluso muerte post-hibernación en individuos juveniles.¹⁰ Los ascáridos, por otro lado, no son tan habituales en el tracto gastrointestinal de estos quelonios y pueden ocasionar obstrucciones y ulceraciones graves, además de migrar y producir patologías extraintestinales.^{2,3,5,11,14,17}

En cuanto a los protozoos gastrointestinales de las tortugas, se suelen transmitir mediante ooquistes o quistes infectantes en las heces que son ingeridos por el hospedador y que, a su vez, producen trofozoítos que invaden el intestino y originan nuevos ooquistes o quistes.²

Como ocurre con los nematodos, muchos de estos protozoos se encuentran de forma natural en las tortugas sin ser completamente patógenos.^{10,15,18} Algunos ciliados pueden facilitar la digestión de celulosa, aunque cuando son numerosos pueden indicar perturbación gastrointestinal.^{2,18} Los flagelados también se suelen considerar no patógenos, aunque pueden ocasionar anorexia y diarrea en parasitosis más graves; además, hay especies en los que pueden resultar muy patógenos, como *Hexamita parva*, que puede causar patologías renales severas.^{2,10,18,19}

Escoger el tratamiento antiparasitario más adecuado puede ser complicado debido a la gran variabilidad existente en la bibliografía disponible, así como la falta de estudios de eficacia de las diferentes pautas terapéuticas. Sin embargo, existen fármacos que resultan tóxicos y se debe evitar administrarlos en tortugas, como es la ivermectina,^{14,20} que en algunas especies se ha demostrado que puede ocasionar paresis, parálisis flácida, lipidosis hepática e incluso la muerte.^{2-4,6,21,22}

Entre los antiparasitarios más utilizados en tortugas frente a parásitos internos, se encuentran el fenbendazol, el levamisol y el praziquantel, entre otros. Los dos primeros se emplean frecuentemente frente a nematodos, siendo el fenbendazol el más usado, mientras que se recurre al praziquantel en caso de cestodos y trematodos. Sin embargo, en caso de protozoos no es necesario tratar si la carga es excesiva y la salud del animal puede verse comprometida, siendo el tratamiento más empleado en este caso el metronidazol.²

Algunas de las dosis, vías de aplicación y pautas de administración descritos de estos fármacos son las siguientes:

- Fenbendazol:

- Reptiles: 50-100 mg/kg PO o percloacal SID, repetir en 14 días.^{4,17,23}
- *Testudo hermanni*: 50 mg/kg PO SID durante 5 días, repetir los días 20 y 24; 100 mg/kg PO dosis única.^{7,24}
- *Testudo graeca*: 100 mg/kg percloacal dosis única;²⁵ 50 mg/kg PO SID, repetir en 21 días.¹⁹
- *Terrapene* spp.: 100 mg/kg PO cada 48 h durante 3 días, repetir en 3 semanas.²⁰

- Levamisol:

- Reptiles: 10-50 mg/kg SC, IP, IC SID, repetir tras 2 semanas;^{4,23} 5-10 mg/kg PO, repetir tras 2 semanas.¹⁷
- Tortugas asiáticas (*Manouria emys*, *Orlitia borneensis*, etc.): 5 mg/kg IC, repetir en 10-14 días.²⁶
- *Trachemys scripta elegans*: 10 mg/kg IM, IV o SC.¹⁴
- *Chelonia mydas*: 5 mg/kg IM o SC.²⁷

- Praziquantel:

- Reptiles: 7,5 mg/kg SC para cestodos, o 20-30 mg/kg PO y repetir a los 14 días para trematodos;⁴ 85,5 mg/kg (+21,5 mg/kg emodepside) tópicamente;³ 3-10 mg/kg IM o PO, posibilidad de repetir a las 2 o 3 semanas.²³

Los benzimidazoles, como el fenbendazol y el mebendazol, actúan inhibiendo el metabolismo energético de los parásitos susceptibles, impidiendo el consumo de glucosa y el intercambio de energía.^{21,23} Además, se unen a las moléculas de tubulina e imposibilitan la formación de microtúbulos y, por tanto, la división celular, lo que provoca la muerte celular de los parásitos diana.^{23,28-31} Estos antiparasitarios son eficaces principalmente frente a nematodos, pero también frente a algunos cestodos y protozoos.^{6,24,32,33} El fenbendazol, pese a considerarse seguro administrado a las dosis correctas, puede afectar a las tortugas sistémicamente, produciendo mielosupresión, alteraciones gastrointestinales y alteraciones hematológicas en algunos casos.^{3,14,24,31}

Por su parte, el levamisol, además de poseer propiedades inmunomoduladoras en otras especies³¹ que no

han sido demostradas en reptiles, se ha visto que es capaz de alterar la función de los receptores nicotínicos de acetilcolina de los parásitos susceptibles, ocasionando la despolarización de sus membranas musculares y paralizándolos.^{29,30,34,35} A pesar de no ser activo sobre cestodos, el levamisol sí resulta eficaz frente a otros parásitos como los nematodos.³³ Es un fármaco que presenta un reducido margen de seguridad, por lo que si no se dosifica correctamente puede resultar tóxico y ocasionar, entre otras alteraciones, sintomatología nerviosa y depresión respiratoria.^{30,36}

En el caso del praziquantel, activo ante cestodos y trematodos sobre todo, se desconoce su mecanismo de acción exacto; no obstante, mediante estudios *in vitro* se ha comprobado que, dependiendo de la concentración, puede dificultar la fijación del cestodo o trematodo al hospedador, estimular la contracción del parásito de forma irreversible e incluso dañar su sistema tegumentario haciéndolo más susceptible a la digestión.^{3,28} Además de ser un cestocida eficaz, es uno de los antiparasitarios más seguros, pudiendo aparecer, aunque no de forma frecuente, signos como salivación, vómitos o diarrea si se produce una sobredosificación.³⁰

El objetivo de este estudio consiste en evaluar la eficacia de diferentes tratamientos antiparasitarios (levamisol y fenbendazol a diferentes dosis) utilizados conjuntamente en un ambiente naturalizado en la especie *Testudo hermanni*.

Material y métodos

Para conseguir el objetivo propuesto, se planteó realizar un estudio de cohorte con diferentes fármacos antiparasitarios y distintas dosis.

La población de estudio escogida pertenece al programa de cría gestionado por la Generalitat Valenciana y el Centro de Recuperación de Fauna CRF "La Granja", situado en el Saler (Valencia). Las tortugas se encuentran en dos cercados exteriores totalmente naturalizados con abundante vegetación mediterránea: uno de 500 m² (Fig. 1) donde se ubican los reproductores y otro de unos 300 m² (Fig. 2) donde se alojan individuos en cuarentena o fuera del programa de reproducción por otros motivos. El estudio se realizó entre los meses de septiembre y octubre de 2019, en los que se registró una temperatura media de 25 °C (con una mínima de 21,3 °C y una máxima de 35,0 °C) y una precipitación acumulada de 155,4 l/m².

Se realizó la selección aleatoria de una muestra homogénea y representativa de setenta individuos clínicamente sanos de los dos cercados, la mayoría adultos o subadultos de entre 200 y 1500 gramos de peso, siendo la mediana del grupo 604 g. Previo a su inclusión en el estudio se realizó un examen físico completo a todos los



Figura 1. Cercado uno (500 m²).



Figura 2. Cercado dos (300 m²).

ejemplares; posteriormente, se constituyeron cinco grupos, de forma heterogénea en cuanto a sexo y edad, para poder administrar a cada uno un tratamiento distinto, excepto uno control que no recibiría tratamiento (grupo control). Cada grupo estuvo compuesto por 8-13 individuos, cada individuo era identificado con un color según el grupo y por un código numérico según el marcaje de los escudos laterales³⁷ (Fig. 3). Los animales permanecieron en los dos recintos a lo largo del estudio para simular una situación naturalizada. Durante el estudio no se añadieron nuevos animales a los recintos, no se cambió la alimentación ni se les sometió a un estrés añadido.

La distribución de los tratamientos en los distintos grupos fue la siguiente:

- Grupo Lev10: Levamisol a dosis altas (10 mg/kg IM).
- Grupo Lev5: Levamisol a dosis bajas (5 mg/kg IM).
- Grupo Fen100: Fenbendazol a dosis altas (100 mg/kg PO).
- Grupo Fen25: Fenbendazol a dosis bajas (25 mg/kg PO).



Figura 3. Los individuos fueron identificados individualmente.

- Grupo Contr: Control.

Durante los meses de septiembre y octubre de 2019, se realizó la siguiente cronología de actuaciones:

- Día 0: Selección de la muestra, identificación de los individuos, pesaje y marcaje de los grupos, recogida de heces pretratamiento, exploración física, primera desparasitación y análisis coprológico pretratamiento.
- Día 7: Recogida de heces, exploración física, pesaje y primer análisis coprológico post-tratamiento.
- Día 14: Recogida de heces, exploración física, pesaje, segunda desparasitación y segundo análisis coprológico post-tratamiento.
- Día 21: Recogida de heces, exploración física, pesaje y tercer análisis coprológico post-tratamiento.
- Día 30: Recogida de heces, exploración física, pesaje y cuarto análisis coprológico post-tratamiento.

Se utilizó el método de sedimentación-flotación McMaster modificado (Fig. 4); la técnica se ajustó en cuanto a la cantidad de heces y agua añadida para expresar los resultados en huevos por gramo de heces (hpg). A las muestras inferiores a un gramo solo se añadía 10 ml de agua, las muestras que pesaban entre uno y dos gramos se mezclaban con 20 ml de agua, y en las muestras entre dos y tres gramos las heces se disgregaban con 42 ml de agua. La fórmula para el cálculo de huevos por gramos de heces (hpg) fue la siguiente:

$$\text{hpg} = \frac{\text{RD} \cdot (\text{g heces} + \text{ml agua})}{0,3 \cdot \text{g heces}}$$

*RD: recuento directo de formas parasitarias en la cámara de McMaster

Para determinar si existían diferencias significativas entre los recuentos de huevos por gramo de heces se usó la prueba F de Fisher, de paquete Excel de

Técnica de McMaster modificada

1. Pesar X g de heces.
2. Disgregar las heces en mortero.
3. Añadir Y ml de agua de forma progresiva; agitar vigorosamente.
4. Filtrar la emulsión por mallas (400-500 µm y 150-160 µm) o colador con gasa (doble capa).
5. Recoger el filtrado, escurrir la gasa, homogeneizar y llenar un tubo de ensayo de 10 ml.
6. Centrifugar el tubo durante 3 minutos a 1500 rpm.
7. Eliminar el sobrenadante, agitar el sedimento (agitador mecánico) y añadir la solución de flotación hasta el nivel superior (10 ml).
8. Homogeneizar el contenido y cargar las dos hemicámaras de una cámara de McMaster con ayuda de una pipeta Pasteur.
9. Volumen de cada hemicámara = 0,5 ml (ambas hemicámaras = 1 ml).
10. Volumen de cada retícula = 0,15 ml (ambas retículas = 0,3 ml).
11. Observar las dos retículas de la cámara (0,3 ml) al microscopio y proceder a la cuantificación de las formas parásitas.
 - El enfoque se realizará en la parte superior de la cámara de McMaster (observación nítida de las líneas de la retícula).
 - Con esta cámara se empleará como máximo el objetivo de 10X.
 - Si se observan diferentes formas parasitarias, el recuento se hará de forma independiente.

Recuento de huevos

Primer cálculo:

$$\text{Huevos presentes en los ml de muestra} = \frac{\text{ml muestra (Y) x n.º huevos en la cámara McMaster}}{0,3 \text{ ml de la cámara}}$$

Segundo cálculo:

$$\text{Huevos por gramos de heces (hpg)} = \frac{1 \text{ g x n.º huevos en la muestra}}{\text{gramos de la muestra (X)}}$$

Figura 4. Técnica de McMaster modificada para el recuento de huevos.

Microsoft 365, como sigue:

- Estadísticamente significativo: Si la comparación (prueba F) < 0,05.
- Estadísticamente no significativo: Si la prueba F > 0,05.

Resultados

Los huevos encontrados en las coprológicas de los quelonios (Fig. 5) pertenecían a la familia *Pharyngodo-*

nidae, que pertenece al grupo de los oxiúridos de que-
lonios (suborden *Oxyurina*). Los recuentos de huevos
por gramo de heces (hpg) de los cinco grupos presenta-
ron medias diferentes, pero no existían diferencias sig-
nificativas ($p < 0,05$) entre ellos en el día 0 del ensayo.
Los recuentos de hpg a lo largo del ensayo siguieron
un patrón general semejante (Fig. 6 y Tabla 1).

Una semana después del primer tratamiento las
medias de los recuentos de hpg descendieron, inclui-
do el grupo control, existiendo diferencias significati-
vas entre los recuentos del día 0 y del día 7, excepto en
el grupo control en el que, a pesar de que los recuen-
tos de hpg descendieron, no se hallaron diferencias

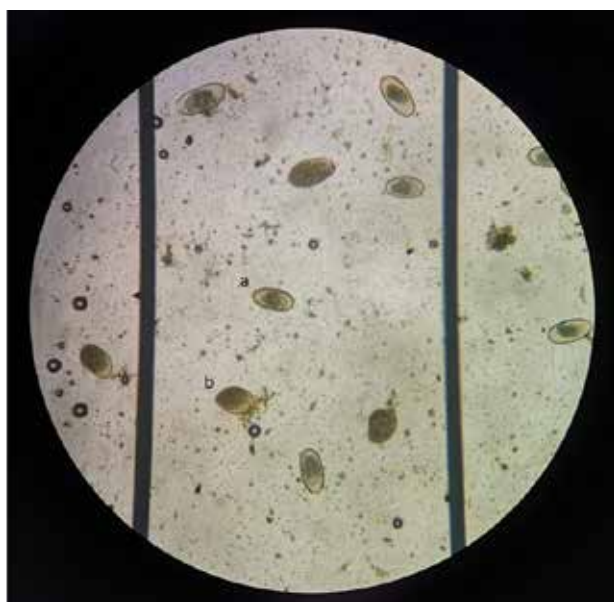


Figura 5. Huevo de oxiúrido (a) y quiste de *Nyctotherus* (b).

significativas ($p > 0,05$). Todos los recuentos de hpg
en el día 15 del ensayo aumentaron respecto al día 7
aunque las diferencias no fueron significativas en los
grupos, excepto en el grupo Lev10 en el que sí que se
hallaron diferencias significativas. Los recuentos de
hpg del día 21 descendieron en todos los grupos de
nuevo, incluido el grupo control, siete días después
del segundo tratamiento que fue el día 15 del ensayo.
A pesar del descenso de los recuentos de hpg, no exis-
tían diferencias significativas entre los días 15 y 21
en ningún grupo, incluido el grupo control, a excep-
ción del grupo Fen100. El día 30 del ensayo, siete días
después del tercer tratamiento antiparasitario, fue el
que presentó menor recuento de hpg en todos los gru-
pos, existiendo diferencias significativas en todos los
grupos entre los recuentos del día 0 y los del día 30,

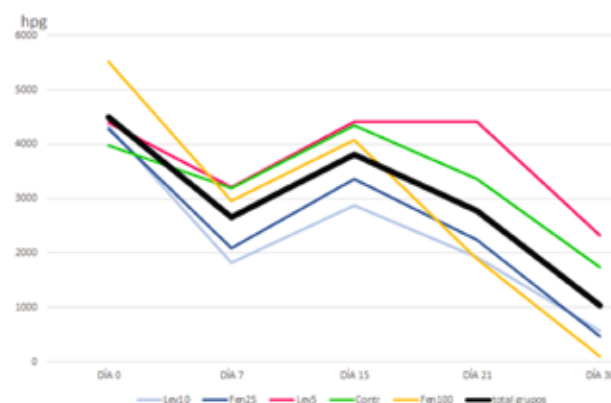


Figura 6. Representación gráfica de las medias por grupo de recuentos de hpg (huevos por gramo de nematodos a lo largo de los 30 días del experimento). Grupo Lev10: levamisol a dosis altas (10 mg/kg IM/SC); Grupo Fen25: fenbendazol a dosis bajas (25 mg/kg PO); Grupo Lev5: levamisol a dosis bajas (5 mg/kg IM/SC); Grupo Contr: control; Grupo Fen100: fenbendazol a dosis altas (100 mg/kg PO).

Tabla 1. Media de huevos por gramo en los 5 grupos del estudio

		DÍA 0	DÍA 7	DÍA 15	DÍA 21	DÍA 30
Lev10	Media hpg	4333,0	1819,0	2873,6	1931,6	564,9
	IC 95%	609,3-5340,4	206,8-4495,3	77,9-6164	37,6-5018,3	139,2
	Rango	0-9196,7	150-9204,4	66,9-11478,5	0-7500	0-1089,2
Fen25	Media hpg	4289,0	2094,2	3368,1	2244,6	465,1
	IC 95%	695,4-9982,7	372,1-1490	2957-12513	2110,7-9318,8	150,8-449,3
	Rango	0-16650	0-2158,3	200-31400	101,9-22698,4	0-511,5
Lev5	Media hpg	4398,6	3207,0	4421,4	4418,8	2333,4
	IC 95%	1523,2-13691,3	721,5-7035,2	671,1-12751,2	349,3-8840	134,1-5037,1
	Rango	0-29756,2	0-11836,6	103,2-25300	0-18222,7	0-9837,8
Contr	Media hpg	3986,2	3195,3	4340,9	3360,3	1743,4
	IC 95%	228,5-1839,8	1332,8-8450,2	3463,4-13222,1	1491,8-9925,8	1891,4-6157,8
	Rango	0-5291	0-19873,3	0-33586,6	220-23575,5	0-16053
Fen100	Media hpg	5517,4	2964,1	4085,5	1895,6	94,1
	IC 95%	85-6678,5	739,6-2360,4	343,4-2287,7	275,8-4813,5	16,6-138,6
	Rango	40,4-14533,3	474,7-3013,3	0-5431,4	0-9503,1	0-280

Media de hpg (huevos por gramo) por grupo y día de estudio. Grupo Lev10: levamisol a dosis altas (10 mg/kg IM/SC); Grupo Fen25: fenbendazol a dosis bajas (25 mg/kg PO); Grupo Lev5: levamisol a dosis bajas (5 mg/kg IM/SC); Grupo Contr: control; Grupo Fen100: fenbendazol a dosis altas (100 mg/kg PO). IC 95%: intervalo de confianza al 95%.

incluido el grupo control que no recibió ningún tratamiento antiparasitario durante todo el estudio.

En el día 30 del ensayo, se observó que los grupos mostraban diferencias significativas entre sí respecto a la carga parasitaria final. No obstante, se comprobó que había dos pares de grupos entre los que no las había: no se hallaron diferencias significativas entre los grupos Lev10 y Fen25, ni tampoco entre los grupos Lev5 y Control, siendo los resultados de estos grupos semejantes. El grupo Fen100 fue el único grupo que mostraba diferencias significativas con el resto, siendo además el que menor carga parasitaria presentó al final del estudio, como se pudo comprobar con los recuentos (Tabla 1).

A pesar de esas diferencias, al final del estudio la tendencia general seguida por toda la muestra poblacional, incluido el grupo control, fue la disminución de la carga parasitaria inicial (Fig. 6).

Discusión

En el presente trabajo, prácticamente todos los individuos presentaban parasitismo por oxiúridos: de las 320 coprologías realizadas, tan solo en 29 no se encontró ninguna forma parasitaria, y estas se encontraban al final del ensayo en el grupo Fen100. La literatura recoge que el parasitismo es muy frecuente en los quelonios, sobre todo en los de la especie *Testudo hermanni*.^{5,6,11} Los nematodos más frecuentes en las tortugas son oxiúridos y ascáridos, así como protozoos del género *Nyctotheroides* y *Balantidium*.^{2,5,6,9-11,16} En este estudio la presencia de ascáridos ha sido muy escasa y hay un claro predominio de nematodos del grupo de los oxiúridos; de hecho, no se ha incluido a los ascáridos en los recuentos de hpg, a diferencia de otros trabajos en los que se observó una mayor cantidad de ascáridos que de oxiúridos, sobre todo del género *Angusticaecum* spp.^{8,36}

La frecuente presencia de los oxiúridos en las tortugas podría deberse a diversos factores como su escasa patogenicidad, su reducida heterogeneidad genética y su capacidad de sobrevivir a la hibernación, convirtiéndolos en comensales habituales del intestino de estos reptiles.^{10,11,13,38,39}

El fenbendazol es el antiparasitario más usado como antihelmíntico en quelonios;^{2,4,6,7,20,25,32} en recientes estudios se ha indicado que la eficacia ha ido disminuyendo a lo largo de los años, posiblemente debido a la generación de resistencias a los benzimidazoles.^{3,14,29} El levamisol también se ha empleado en numerosas ocasiones frente a nematodos, considerándose en algunos estudios como otra opción de gran eficacia frente a estos parásitos.^{14,17,26,27,29}

La comparación entre estos fármacos ya se realizó

anteriormente en un estudio con sapos de Houston (*Bufo (Anaxyrus) houstonensis*),⁴⁰ en el que se evaluó la eficacia de una dosis determinada de cada medicamento. En el trabajo actual, además de realizar la comparación en quelonios de la especie *Testudo hermanni*, se decidió establecer dos dosis diferentes de cada fármaco y realizar el estudio en un ambiente naturalizado, con el objetivo de indagar un poco más en la eficiencia de estos en una situación real. El fenbendazol se administró vía oral, ya que, a pesar de que la administración percloacal se ha estimado eficaz en diversos estudios,^{4,25} sigue siendo la vía más utilizada y con la que más comparaciones se pueden hacer. En cuanto al levamisol, al haber una mayor variedad de vías de administración descritas, se optó por la vía intramuscular que, en estudios como el de *Corum et al.*,¹⁴ resultó más efectiva que otras como la intravenosa o la oral.

En el presente ensayo clínico el fenbendazol presentó mayor eficacia, consiguiendo descensos considerables en los recuentos de hpg a dosis bajas (grupo Fen25) y resultando ser el tratamiento más eficaz al administrarse en dosis elevadas (grupo Fen100). El grupo Fen100 presentó los recuentos más bajos en el día 30 del ensayo, existiendo diferencias significativas con todos los grupos. Por otro lado, los grupos en los que se administró levamisol a ambas dosis (Lev10 y Lev5) presentaron mayores recuentos de hpg. Por tanto, la eficacia de este antiparasitario fue menor, no hallándose diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los grupos Lev5 y Lev10 con los grupos control y Fen25. Estos hallazgos difieren con los obtenidos en el estudio de *Bianchi et al.*,³⁹ donde tanto el levamisol como el fenbendazol exhibieron resultados similares en cuanto a eficacia. De esta forma, el tratamiento que destacó sobre el resto, reduciendo casi sesenta veces la carga inicial, fue el consistente en 100 mg/kg de fenbendazol vía oral, descrito en estudios como el de *Gianetto et al.*⁷ en el que obtuvo una efectividad similar al oxfendazol oral a una dosis de 66 mg/kg. Por el contrario, el levamisol no mostró una eficacia relevante, únicamente pudiendo equipararse al fenbendazol cuando este se aplicaba a dosis bajas; esto refleja que, por lo menos a las dosis administradas y en las condiciones estudiadas, el levamisol no se puede considerar una alternativa igual de eficaz que el fenbendazol.

La seguridad de los tratamientos es otra razón por la que resultaba interesante comparar estos dos fármacos. Durante el presente estudio, se produjo una baja entre el total de individuos que participaban en el experimento. Esta muerte se dio entre las tortugas pertenecientes al grupo Lev10. Los hallazgos en la necropsia y el estudio histopatológico determinaron que

el animal falleció por una inflamación e infección de origen respiratorio, lo que no refleja una clara relación entre la muerte y el tratamiento aplicado. Se desconoce así si el tratamiento con altas dosis de levamisol está relacionado con esta muerte, aunque la misma pauta de tratamiento fue utilizada por Corum *et al.*,¹⁴ y no solo no hubo problemas aparentes, sino que fue tolerada correctamente por las tortugas. No obstante, cabe remarcar que existen otras publicaciones donde se advierte del reducido margen de seguridad que posee el levamisol,² así como de los efectos tóxicos que puede acarrear, entre ellos convulsiones, signos nerviosos y problemas respiratorios consecuencia de una parálisis pulmonar.³⁰ En cuanto al fenbendazol, tampoco se observaron signos que indicasen algún problema patológico en los quelonios, ni murió ningún animal tras la administración del fármaco. Como indican Neiffer *et al.*,³⁰ esta seguridad, o buena aceptación del fármaco, es lo que ha hecho que, durante muchos años, se haya empleado el fenbendazol con tanta frecuencia. Sin embargo, en su estudio comprobaron que, pese a que las tortugas no presentaban signos de enfermedad, sí se daban alteraciones hematológicas que podrían resultar peligrosas en individuos con alguna patología. Esto lleva a reflexionar sobre la necesidad de estudiar en mayor profundidad los aspectos tóxicos de estos fármacos, sobre todo en los más utilizados como el fenbendazol. De esta forma, sería recomendable que, de manera simultánea a la instauración de un tratamiento, se revisase a los animales periódicamente, tanto a nivel externo como interno mediante un chequeo clínico y analítica^{14,31} para asegurar el correcto estado general del paciente y poder interrumpir la terapia ante algún desequilibrio grave en el organismo que pueda suponer una alteración en el metabolismo del fármaco.

Mientras que en otros estudios como el de Giannetto *et al.*,⁷ no fue necesaria la administración de una segunda dosis de fenbendazol para reducir la carga de hpg, en el estudio que presentamos aquí se administraron tres dosis de fenbendazol a 100 mg/kg. Sin embargo, existe una diferencia importante entre los dos trabajos: en el estudio de Giannetto se limpiaba diariamente el recinto de las tortugas de heces y de comida, mientras que en el presente estudio no se actuaba sobre el medio. Las heces son foco de contaminación de medio y de infección de las tortugas, por lo que en situaciones más naturales podría ser necesaria la administración de varias dosis de antiparasitario. El presente estudio ha sido realizado en condiciones naturalizadas, asemejándose más a una situación real, en la que la presencia de huevos en el ambiente puede seguir reinfestando a los individuos a lo largo del estudio.

Aun siendo el fenbendazol más eficaz que el levami-

sol, una sola dosis de 100 mg/kg no fue suficiente para eliminar la totalidad de la carga parasitaria. Fueron necesarios tres tratamientos para reducir significativamente la eliminación de huevos de oxiúridos.

Esta controversia en cuanto a la eficacia del fenbendazol, sumada a los problemas hematológicos que puede ocasionar, las resistencias que muchos parásitos ya han generado y la dificultad que supone en ocasiones medicar a las tortugas vía oral, motiva la búsqueda de nuevos tratamientos que sirvan de alternativa. Un ejemplo de ello se puede encontrar en el trabajo de Tang *et al.*³ que evalúa la eficacia de una combinación tópica de praziquantel y emodepside en tortugas. Se comprobó que protocolos concretos de fenbendazol continuaban siendo ligeramente más eficaces, aunque el tratamiento con praziquantel y emodepside ofrecía un efecto antihelmíntico casi equiparable mediante una vía de aplicación mucho más práctica y de forma bastante más segura. De esta forma, a pesar de que es necesario investigar más sobre estos fármacos y las diferentes dosis a administrar, este tratamiento tópico podría ser una buena alternativa en situaciones de difícil manejo o de resistencia frente al fenbendazol, entre otras.

Por último, otro aspecto que este estudio puso de manifiesto fue la posibilidad de que el ambiente influyese en la eficacia de los tratamientos. En el presente estudio los animales no fueron aislados ni trasladados a otro lugar, sino que tras el manejo, eran devueltos al mismo ambiente original, conviviendo así tanto los animales seleccionados para el proyecto como el resto de individuos del centro; además, con el objetivo de intentar reproducir lo que sucedería en un entorno silvestre, los habitáculos de las tortugas no recibieron ningún tipo de modificación o limpieza durante todo el estudio.³ De este modo se pudo comprobar que, tras un primer tratamiento, si no se volvía a tratar ni se mantenía una correcta higiene del ambiente, se producía la reinfestación parasitaria de los animales. Esta naturalización del estudio también reveló un efecto indirecto en el grupo control que, a pesar de no haber recibido ningún tipo de tratamiento, experimentó una disminución de la carga parasitaria al final del estudio. Este hecho se debió posiblemente a la desparasitación de los ejemplares tratados, los cuales eliminarían una menor cantidad de huevos en las heces y contribuirían a la reducción de la contaminación ambiental del medio, aunque se requieren más estudios para validar este último aspecto. No obstante, al no limpiar los alojamientos, no fue posible eliminar por completo la carga ambiental, lo que podría haber repercutido en la eficacia del tratamiento y dificultar la eliminación total de la carga parasitaria por parte de los individuos.

En el estudio que Giannetto *et al.*⁷ realizaron con tor-

tugas mediterráneas en Italia se utilizó el fenbendazol (a 100 mg/kg) y la eliminación de huevos se redujo en casi su totalidad tras la primera dosis. El estudio de Giannetto y el presente estudio difieren en algún aspecto, por ejemplo que en el presente ensayo no se limpiaba el ambiente y en el trabajo de Giannetto sí se hizo. Esta actuación de limpieza del medio puede influenciar en los resultados de ambos trabajos; en el ensayo italiano con una sola dosis se redujo sustancialmente la eliminación de huevos, mientras que en nuestro ensayo fueron necesarias hasta tres dosis. Posiblemente esto se debería a que en el primero no se produjeron reinfecciones y en el nuestro sí.

Como conclusión, el fármaco más eficaz de los evaluados en este estudio, fue el fenbendazol administrado a una dosis de 100 mg/kg vía oral. El levamisol no fue capaz de igualar la efectividad del fenbendazol en ninguna de las dosis administradas en las condiciones de nuestro estudio. El grupo control, sin tratamiento

antiparasitario alguno, disminuyó la carga parasitaria. Se requieren más estudios para valorar si la desparasitación de un grupo de individuos de una población puede repercutir en la carga parasitaria de individuos no desparasitados del mismo grupo.

Agradecimientos

Queremos agradecer al Centro de Recuperación de Especies del Saler perteneciente a la Conselleria de Agricultura, Desarrollo Rural, Emergencia Climática y Transición Ecológica su ayuda y colaboración en la realización del presente estudio. Asimismo, queremos agradecer al Grupo de Medicina y Cirugía de Animales exóticos (GMCAE) de AVEPA la posibilidad de realizar este trabajo mediante la concesión de la Beca de financiación de Proyectos de Estudios Clínicos Originales y/o Experimentales del GMCAE-AVEPA en su convocatoria 2019-2020.

Fuente de financiación: el presente estudio ha sido realizado con la financiación de la “Beca de Financiación de Proyectos de Estudios Clínicos Originales y/o Experimentales del GMCAE-AVEPA 2019-2020”.

Conflicto de intereses: los autores declaran no tener ningún tipo de conflicto de interés.

Summary

Hermann's tortoise (*Testudo hermanni*) is a European chelonian that is severely threatened nowadays. Problems associated with intestinal parasites aren't unusual in these reptiles; so given the need for bibliography about their treatment, it was decided to evaluate the effectiveness of some antiparasitic agents, such as fenbendazole and levamisole, in this species. Seventy tortoises were divided into five different groups: two groups were treated with fenbendazole orally at low (25 mg/kg) and high (100 mg/kg) doses respectively, two groups were medicated with levamisole intramuscularly at low (5 mg/kg) and high (10 mg/kg) doses too, and the last group remained untreated to exercise as a control. Both antiparasitics turned out to be effective at the end of the investigation, decreasing the initial nematode burden in all groups, despite none of them being capable of completely eliminate the tortoises' parasites. The most efficient antiparasitic in this research was fenbendazole at 100 mg/kg, whereas levamisole at both doses was less effective than fenbendazole. The environment influence was reflected in the control group, which had a decreased parasitic burden without having been treated.

Bibliografía

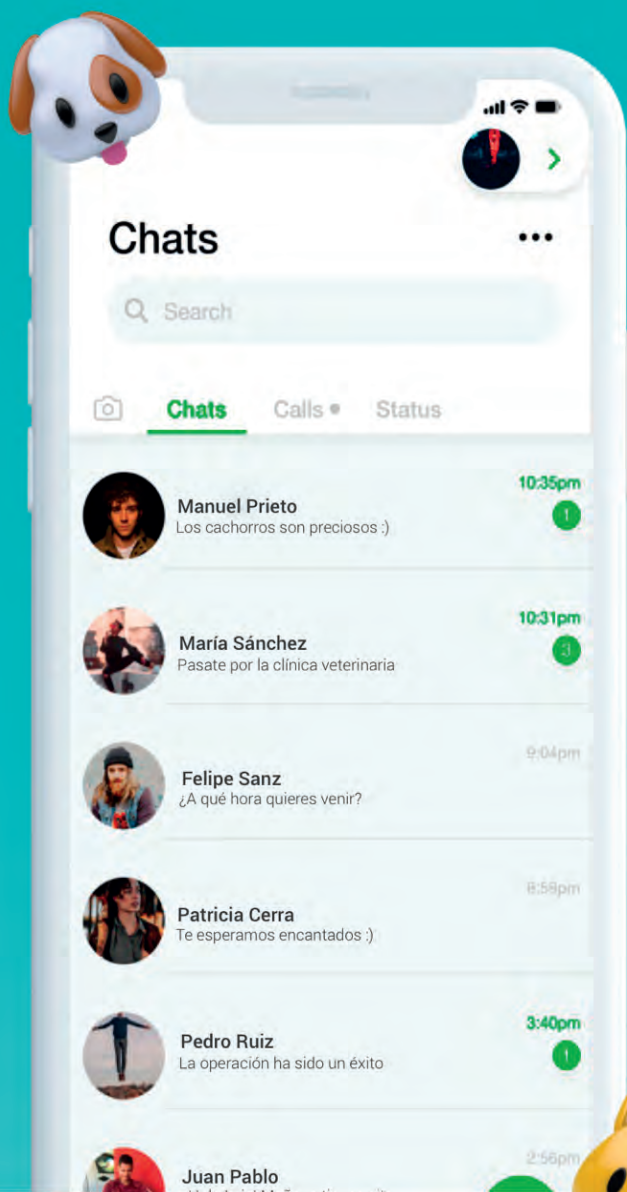
- Bertolero A. Tortuga mediterránea – *Testudo hermanni*. En: Salvador, A., Marco, A. (Eds.). Enciclopedia Virtual de los Vertebrados Españoles. Madrid: Museo Nacional de Ciencias Naturales; 2010 (consultado 24 septiembre de 2019). Disponible en: <http://hdl.handle.net/10261/108609>
- Hedley J. A review of gastrointestinal parasites in tortoises. *Testudo*. 2013; 7: 1-11.
- Kan P, Pellett S, Blake D, Hedley J. Efficacy of a Topical Formulation Containing Emodepside and Praziquantel (Profender®, Bayer) against Nematodes in Captive Tortoises. *J Herp Med Surg*. 2017; 27 (3-4): 116-122.
- Martínez-Silvestre A, Soler J. Enfermedades infecciosas y parasitarias en tortugas. *Consulta Difus Vet*. 2008; 150: 43-54.
- Miñana O, Ponce F. Prevalencia de parásitos intestinales en tortugas terrestres en cautividad y análisis de factores de riesgo. *Clin Vet Peq Anim*. 2018; 38(2): 79-90.
- Martínez-Silvestre A. Massive *Tachygonetria* (Oxyuridae) infection in a Herman's tortoise (*Testudo hermanni*). *Consulta Journal Special Edition*. 2011; 409-412.
- Giannetto S, Brianti E, Poglayen G, et al. Efficacy of oxfendazole and fenbendazole against tortoise (*Testudo hermanni*) oxyurids. *Parasitol Res*. 2007; 100: 1069-1073.
- Pelichone N, Deis E, Cuervo P. The occurrence of gastrointestinal parasitism in captive Argentinean Tortoise (*Chelonoidis chilensis*). *Rev Ibero-Latinoam Parasitol*. 2010; 69(2): 214-219.
- Chávarri M, Berriatua E, Giménez A, et al. Differences in heminths in-

fections between captive and wild spur-thighed tortoises *Testudo graeca* in southern Spain: A potential risk of reintroduction of this species. *Vet Parasitol.* 2012; 187: 491-497.

10. Hallinger MJ, Taubert A, Hermosilla C, Mutschmann, F. Occurrence of health-compromising protozoan and helminth infections in tortoises kept as pet animals in Germany. *Parasit Vectors.* 2018; 11: 352.
11. Rataj AV, Lindtner-Knific R, Vlahović K, Mavri U, Dovč A. Parasites in pet reptiles. *Acta Vet Scand.* 2011; 53: 33.
12. Pérez A, Aguirre A, Piñango JQ, et al. Parasitic nematode infection in the south american red-footed tortoise *Geochelone carbonaria* from Upata, Boívar, Venezuela. *Neotrop Helminthol.* 2014; 8(2): 47-53.
13. Wolf D, Vrhovec MG, Failing K, et al. Diagnosis of gastrointestinal parasites in reptiles: comparison of two coprological methods. *Acta Vet Scand.* 2014; 56(1): 44.
14. Abd El-All AA, Gamal-Eldein MA, Elassy NM. Prevalence of some Protozoan Parasites in the Egyptian Tortoise (*Testudo kleinmanni*). *SCVMJ.* 2014; 19 (1): 37-43.
15. Gamal-Eldein MA, Abd El-All, AA, Elassy NM. Prevalence of some nematode parasites in the Egyptian tortoise (*Testudo kleinmanni*). *SCVMJ.* 2014; 19(1): 25-36.
16. De la Navarre B. Common parasitic diseases of reptiles and amphibians. En: CVC in San Diego proceedings; 2008.
17. Papini R, Manetti C, Mancianti F. Coprological survey in pet reptiles in Italy. *Vet Rec.* 2011; 169 (8): 207.
18. Corum O, Durna D, Atik O, et al. Pharmacokinetics of levamisole in the red-eared slider turtles (*Trachemys scripta elegans*). *J Vet Pharmacol Ther* 2019; 42(6): 654-659.
19. Cutler SL. Nematode-Associated Aural Abscess in a Mediterranean Tortoise, *Testudo Graeca*. *J Herp Med Surg.* 2004; 14(3): 4-5.
20. Boyer TH. Common Problems of Box Turtles (*Terrapene* spp) in Captivity. *Bulletin of ARAV.* 1992; 2 (1): 9-14.
21. Fitzgerald KT, Newquist KL. Poisonings in the Captive Reptile. En: Peterson ME, Talcott PA (ed.). *Small Animal Toxicology.* 3ª edición. St. Louis, Mo: Elsevier Saunders; 2013. p. 229-249.
22. Fitzgerald, K.T. & Martínez-Silvestre, A. 2019. Toxicology. 977-991. In: Divers, S.J. & Stahl, S. (eds.), *Mader's Reptile and Amphibian Medicine and Surgery.* St Louis. Elsevier.
23. Funk RS. A Formulary for Lizards, Snakes, and Crocodilians. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 2000; 3(1): 333-358.
24. Gibbons PM. Advances in Reptile Clinical Therapeutics. *J Exot Pet Med.* 2014; 23: 21-38.
25. Innis C. Per-Cloacal Worming of Tortoises. *Bulletin of ARAV.* 1995; 5(2): 4-4.
26. Barzyk J, Flanagan JP, Innis C, et al. Asian Turtle Crisis. *J Herp Med Surg.* 2002; 12(4): 23-30.
27. Glazebrook JS. Diseases of farmed sea turtles. En: Glazebrook JS (ed.). *Management of turtle resources.* North Queensland: James Cook University; 1980. p. 42-55.
28. Lappin R. Anthelmintic Agents. En: Washabau RJ, Day MJ (ed.). *Canine and Feline Gastroenterology.* St. Louis, Mo: Elsevier Saunders; 2013. p. 458-462.
29. Márquez D. Alternativas químicas de control de nematodos: los anti-helmínticos. En: Márquez D (autor). *Resistencia a los antihelmínticos en nematodos de rumiantes y estrategias para su control.* Bogotá (Colombia): Produmedios; 2007. p. 9-28.
30. Hsu WH, Martin RJ. Antiparasitic agents. En: Hsu WH (ed.). *Handbook of Veterinary Pharmacology.* 1ª edición. Iowa: Wiley-Blackwell; 2008. p. 379-416.
31. Symoens, J., & Rosenthal, M. . Levamisole in the modulation of the immune response: The current experimental and clinical state. *J Reticuloendothel Soc.* 1977; 21: 175-221.
32. Neiffer DL, Lydick D, Doherty D. Hematologic and plasma biochemical changes associated with fenbendazole administration in Hermann's tortoises (*Testudo hermanni*). *J Zoo Wildl Med.* 2005; 36(4): 661-672.
33. Isea GA, Rodríguez IE, Urdaneta RA. Antihelmínticos en perros y gatos. *Centro Veterinario.* 2011; 48: 14-20.
34. Varga M. Chapter 3 - Therapeutics. En: Varga M (ed.). *Textbook of Rabbit Medicine.* 2ª edición. Edimburgo: Butterworth-Heinemann; 2013. p. 137-177.
35. McCarthy JR, Moore TA. Drugs for Helminths. En: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ (ed.). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases.* 8ª edición. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2015. p. 519-527.
36. Fulton, RM. Toxins and Poisons. En: Swayne DE (ed.). *Diseases of Poultry.* 14ª edición. New Jersey: Wiley & sons; 2019. p. 1349-1382.
37. Zuffi, MAL y Gariboldi, A. Geographical patterns of Italian Emys orbicularis a biometrical analysis. In: G.A. Llorente, a., Montori, X., Santos y MA Carretero (eds) *Sci. Herpetologica (Bare).* 1995; 120-123.
38. Holt PE, Cooper JE, Needham JR. Diseases of tortoises: a review of seventy cases. *J Small Anim Pract.* 1979; 20: 269-286.
39. Traversa D, Capelli G, Iorio R, et al. Epidemiology and biology of nematodofauna affecting *Testudo hermanni*, *Testudo graeca* and *Testudo marginata* in Italy. *Parasitol Res.* 2005; 98(1): 14-20.
40. Bianchi CM, Johnson CB, Howard LL, Crump P. Efficacy of fenbendazole and levamisole treatments in captive houston toads (*Bufo (Anaxyrus) houstonensis*). *J Zoo Wildl Med.* 2014; 45(3): 564-568.



TU SOFTWARE DE GESTIÓN VETERINARIA
AHORA TE DA MUCHO MÁS



EN UN SOLO
CLICK COMUNICA
CON TUS CLIENTES

Envíos masivos de:

- ✓ Citas
- ✓ Recordatorios
- ✓ Desertores
- ✓ Encuestas
- ✓ Campañas

Envíos individuales:

- ✓ Informes
- ✓ Pruebas clínicas
- ✓ Mensajes

AHORA WINVET CONECTA CON WHATSAPP[®]
COMUNÍCATE CON TU CLIENTE

+34 91 181 25 90
contacta@qcompusoft.com
www.winvet.es



WhatsApp Messenger es una marca registrada de Facebook Inc, la cual se rige por sus propios términos.